

**戦略的創造研究推進事業
－チーム型研究(CREST)－**

**研究領域 「ライフサイエンスの革新を
目指した構造生命科学と先端的基盤技術」**

研究領域中間評価用資料

研究総括：田中 啓二

2017 年 2 月

目次

1. 研究領域の概要	1
(1)戦略目標	1
(2)研究領域	1
(3)研究総括	1
(4)採択研究課題・研究費.....	2
2. 研究総括のねらい.....	4
3. 研究課題の選考について.....	4
4. 領域アドバイザーについて.....	5
5. 研究領域の運営について.....	7
6. 研究の経過と所見.....	9
7. 総合所見	13

1. 研究領域の概要

(1) 戦略目標

「多様な疾病の新治療・予防法開発、食品安全性向上、環境改善等の産業利用に資する次世代構造生命科学による生命反応・相互作用分子機構の解明と予測をする技術の創出」

(2) 研究領域

「ライフサイエンスの革新を目指した構造生命科学と先端基盤技術」(平成 24 年度発足)

本研究領域は、先端的ライフサイエンス領域と構造生物学との融合によりライフサイエンスの革新に繋がる「構造生命科学」と先端基盤技術の創出を目指します。すなわち最先端の構造解析手法をシームレスに繋げ、原子レベルから細胞・組織レベルまでの階層構造ダイナミクスの解明と予測をするための普遍的原理を導出し、それらを駆使しながら生命科学上重要な課題に取り組みます。

近年わが国では大規模なタンパク質の構造決定研究が進められ大きな成果を収めてきましたが、今後はその資源を礎に、生命現象の重要な担い手でありながら単独では機能しないタンパク質を動的に捉え、これが多くの生体高分子との相互作用で機能を発揮するメカニズムを追求することが大切です。たとえば多くの動植物の病気はタンパク質の異常に由来しますが、その原因を解明し、新規治療法や予防法を開発するためには、構造生命科学を基軸にした生命現象の理解が不可欠です。また、健康な長寿社会の実現、安全な食糧生産、環境問題の克服でも構造生物学的研究が求められます。こうした局面において構造生命科学は、生命現象を原子・分子レベルで時間的・空間的に解明して普遍的原理を導出し、さらには構造から生命現象を予測することで、こうした課題に応えるものとなります。

そこで本研究領域では、この構造生命科学を駆使して生命現象を支える重要な機能性素子である巨大複合体やオルガネラの動態解析、疾患の原因分子の特定とその構造の解明、構造的相互作用に基づいた創薬のためのリード化合物の分離などのほか、こうした研究を実現するに必要な先導的技術の創出を目指します。本研究領域は、文部科学省の選定した戦略目標「多様な疾病の新治療・予防法開発、食品安全性向上、環境改善等の産業利用に資する次世代構造生命科学による生命反応・相互作用分子機構の解明と予測をする技術の創出」のもとに、平成 24 年度に発足しました。

(3) 研究総括

氏名 田中 啓二

(東京都医学総合研究所 理事長兼所長)

(4) 採択研究課題・研究費

(百万円)

採択年度	研究代表者	中間評価時 所属・役職	研究課題	研究費*
2012 年度	遠藤斗志也	京都産業大学・教授	ミトコンドリアをハブとする構造機能ネットワークの解明	308
	千田俊哉	高エネルギー加速器研究機構物質構造科学研究所・教授	ピロリ菌の感染と発がん機構の構造学的解明	198
	月原富武	兵庫県立大学・特任教授	ミトコンドリア呼吸鎖の構造生命科学ー構造がもたらす正確さ	203
	樋口芳樹	兵庫県立大学・教授	生物酵素による水素エネルギー利用システムの構造基盤解明	233
	深井周也	東京大学・准教授	シナプス形成を誘導する膜受容体複合体と下流シグナルの構造生命科学	213
	山口明人	大阪大学産業科学研究所・特任教授	異物排出輸送の構造的基盤解明と阻害剤の開発	312
2013 年度	安藤敏夫	金沢大学・教授	ATP/GTP が駆動するタンパク質マシナリーの動的構造生命科学	147
	礪辺俊明	首都大学東京大学院・特任教授	RNA 代謝異常症のリボヌクレオプロテオミクス解析と構造生命科学への展開	151
	伊藤隆	首都大学東京大学院・教授	NMR と計算科学の融合による in situ 構造生物学の確立と真核細胞内蛋白質の動態研究への応用	154

	栗栖源嗣	大阪大学蛋白質研究所・教授	植物の環境適応を実現する過渡的超分子複合体の構造基盤	169
	清水敏之	東京大学大学院・教授	自然免疫における一本鎖核酸認識受容体の構造解明およびその応用	214
	永田和宏	京都産業大学・教授	小胞体恒常性維持機構：Redox, Ca ²⁺ , タンパク質品質管理のクロストーク	181
	野田展生	微生物化学研究会微生物化学研究所・首席研究員	オートファジーの膜動態解明を志向した構造生命科学	171
2014年度	吉川雅英	東京大学大学院・教授	鞭毛・繊毛をターゲットとする細胞の構造生命科学	124
	高島成二	大阪大学大学院・教授	新たな臓器保護剤の開発に向けた ATP 産生制御の構造生命科学	117
	中川敦史	大阪大学蛋白質研究所・教授	新規細胞膜電位シグナルの構造基盤の解明	137
	長田重一	大阪大学免疫学フロンティア研究センター・特任教授	細胞膜におけるリン脂質の非対称分布とその崩壊	124
	森田（寺田）美代	名古屋大学大学院・教授	重力屈性における重力シグナリングの分子機構～分子構造から個体応答まで～	110
総研究費				3,266

*研究費：2016年度上期までの実績額に2016年度下期以降の計画額を加算した金額
 本研究領域においては、提案の内容に応じて適切に研究費を見直し、限られた予算の中でライフサイエンス分野での機能分子の構造が機能解析に重要な情報をもたらすような課題から技術革新や開発の可能な課題までを組み合わせで採択した。期中の予算見直しにおいては、特にチーム間の技術の連携、研究成果の社会への還元を意識した研究項目を重視し、2016年度より領域内でコンペティションを行い、年間数百～1,500万円規模での支援

を行っている。

2. 研究総括のねらい

本研究領域は、先端的ライフサイエンス領域と構造生物学との融合によりライフサイエンスの革新に繋がる「構造生命科学」と先端基盤技術の創出を目的とする。

この新しい「構造生命科学」という研究分野では、タンパク質の「構造を解く」研究を深化させ、「構造を使う」研究への飛躍を実現し、研究の社会還元を目指したい。具体的な社会還元内容としては、「革新的な予防法の開発」、「新しい早期診断法の開発」、「安全で有効性の高い治療の実現」、「高齢者、障害者、患者の生活の質（QOL）の向上」及び「安定的なエネルギー供給と低炭素化の実現」などがあげられる。この目的を達成するために、(1) ヒトをはじめとする動物や植物・微生物の生体内機能解明やエネルギー産生メカニズムおよび(2) その解明のための新技術の開発の2つを研究対象とした。

また、構造生物学と生命機能解明の融合という点を最重要視している。このため、タンパク質などの機能分子の構造解明のみの研究は対象としないこととした。基礎生命科学研究者と構造生物学研究者の共同研究を重視し、構造を使って生命機能解明に貢献することを期待している。

3. 研究課題の選考について

本研究領域では、ライフサイエンス分野と構造生物学の融合を目指した課題を推進し、タンパク質の「構造を解く」研究を深化させ、「構造を使う」研究へと飛躍させ、疾患に対する創薬や治療法の創出・エネルギー生産技術の産出・植物育成につながる研究やそれらにつなげるための基礎生命のための技術開発を行うことを目的とし、そのために構造を「解き」、「使う」という生命機能解析と構造解析に両軸をおくような課題を公募した（図1）。また、ライフサイエンス研究の発展に資するための結晶構造解析、溶液散乱、核磁気共鳴（NMR）、電子顕微鏡、1分子観察、分子イメージング、タンパク質複合体単粒子構造解析、質量分析、計算科学、バイオインフォマティクス、各種相互作用解析法などの手法を高度化させる課題や新たな多次元研究手法、全く新規な手法の創出も対象とした。

初年度は、疾患の原因分子の特定とその構造の解明、構造的相互作用に基づいた創薬のためのリード化合物の分離、細胞内小器官機能解明などの観点から審査を行い、ミトコンドリア機能解明・疾患メカニズム解明・感染症に対する阻害剤開発・バイオ電池開発などを目的とした6課題を選出した。

次年度は、「構造を解く」研究では構造解析技術の高度化や新たな技術開発研究を主軸に、「構造を使う」研究ではウイルスに関する新たな検査法・予防法・治療法等の開発につながる研究、環境問題等に配慮した植物の育成につながる研究などを行う課題を中心に選考を行った。また、タンパク質以外の生命機能分子（核酸や脂質・糖など）の構造の知見か

ら生命現象解明に迫るような研究も対象とした。その結果として、高速 AFM、in cell NMR、RNA 質量分析などの技術課題を中心に採択し、構造を使う研究では、自然免疫・植物・微生物の光環境適応・オートファジーや小胞体恒常性研究などを採択し、様々な分野にわたる 7 課題を選出した。

最終年度は、前年度までの観点に加えて、技術開発中心の提案については緩和した条件で課題の選考を行い、臓器保護剤開発・植物の重力屈性・細胞膜電位機構・アポトーシスの機能解明や、クライオ電子顕微鏡を用いた繊毛・鞭毛の構築原理解明など、合計 5 課題を採択した。

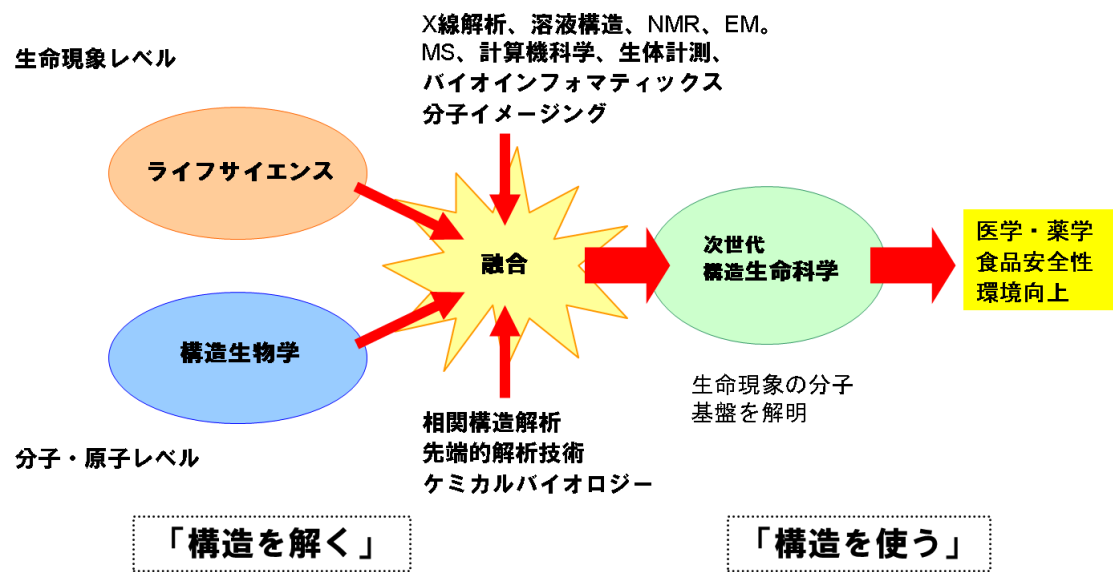


図 1. 本研究領域の対象となる技術・分野の俯瞰

4. 領域アドバイザーについて

領域アドバイザー名 (専門分野)	現在の 所属	役職	任期
大隅良典	東京工業大学フロンティア研究機構	名誉教授	2012 年 5 月～現在に至る
嶋田一夫	東京大学大学院薬学系研究科	教授	2012 年 5 月～現在に至る

中島元夫	SBI ファーマ（株）	取締役執行役員・CSO	2012 年 5 月～現在に至る
箱嶋敏雄	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科	教授	2012 年 5 月～現在に至る
藤吉好則	名古屋大学大学院創薬科学研究科	特任教授	2012 年 5 月～現在に至る
古谷利夫	ペプチドリーム（株）	技術顧問	2012 年 5 月～現在に至る
三浦正幸	東京大学大学院薬学系研究科	教授	2013 年 4 月～現在に至る
山縣ゆり子	熊本大学大学院成形科学研究部	教授	2012 年 5 月～現在に至る
由良敬	お茶の水女子大学大学院人間文化創成科学研究科	教授	2014 年 4 月～現在に至る
吉田賢右	京都産業大学総合生命科学部	シニアリサーチフェロー	2012 年 5 月～現在に至る

本研究領域では、生命科学と先端技術の異分野融合により、構造と機能の相関から生命現象の解明を目標とし、対象とする分野はガン・免疫・感染症・神経変性疾患などの医学・薬学から光合成や植物の伸長などの植物分野、RNA、細胞やオルガネラの機能など多岐にわたり、対象となる解析技術は X 線結晶構造解析や NMR、電子顕微鏡、計算科学など多様な技術を用いた提案が期待された。

このため領域アドバイザーとして、生命機能解析から構造解析まで幅広い分野を網羅されている吉田賢右先生、機能解析の専門家としては、オートファジー研究にてノーベル生

理学・医学賞を受賞されるなど細胞内機能解析で国際的に評価されている大隅良典先生、ガンや感染症などの医療分野の研究で顕著な成果をあげ、製薬企業所属の立場から創薬など開発の観点をお持ちの中島元夫先生を、構造解析の専門家として、電子顕微鏡を用いた構造解析の国内第一人者である藤吉好則先生、核酸に関わるタンパク質のX線結晶構造解析がご専門の山縣ゆり子先生、シグナル伝達タンパク質などの結晶構造解析やタンパク質の発現・精製など多くの研究をされている箱嶋敏雄先生、NMR がご専門の嶋田一夫先生、分子構造などから創薬基盤研究を行われている古谷一夫先生と、それぞれ幅広い学問分野にわたり基礎から研究開発フェーズを縦横に俯瞰することのできる、前表の有識者の方々にお願いした。また、お願いするにあたって自分の専門分野だけでなく本研究領域全体に亘って幅広い視点での研究へのアドバイスができる有識者と言う点を重視した。

また、2013 年度に課題選考における細胞死などの細胞機能研究の評価を強化する観点から、カスパーゼを介した細胞死研究など幅広い見識をお持ちの三浦正幸先生に参加いただいた。2014 年度には構造生物学における計算科学の進展に伴い、インフォマティクスの重要性が高まったことから構造解析における計算科学がご専門の由良敬先生に参加いただいた。

5. 研究領域の運営について

研究領域の全体的な運営方針

ライフサイエンスにおけるタンパク質構造生物学の研究は、ポストゲノム時代と呼ばれた 2000 年代初頭の網羅的解析からターゲットを絞った解析へと変移していったが、機能解析との融合は次のフェーズの課題であった。2012 年度からの本領域の研究では、この背景を受けて、機能解析グループと構造解析グループがチームを編成し、「構造解析」と「生命機能解析」の融合を目指している。その際、両解析のバランスを考慮し、一方に偏ることなく、互いの成果が双方に新しい知見をもたらし合い、生命科学の躍進につながるよう、留意している。また、構造解析における先端的な基盤技術の開発によって解析技術の革新がなされることも重要な課題としている。

この研究領域を運営するに当たって特に留意している事項は以下の通りである。

(1) 研究領域会議・アドバイザー会議の開催

各研究チームの進捗把握・研究成果の共有目的で、研究総括、領域アドバイザー、および研究代表者の参加を必須、主たる共同研究者や研究参画者もできる限りの参加とした領域会議を年 1 回、開催している。オーラル発表は、研究代表者がチーム全体の発表をする形式と、各グループの代表者である研究代表者および主たる共同研究者がそれぞれの担当研究をご発表いただく形式と隔年で行い、研究代表者の研究マネジメントと各グループの詳細な研究内容が両方、分野内に共有されるように心がけている。また、実験に携わる若手の研究参加者等にはポスター発表を頂き、互いのチームの理解や交流を図っている。会

議の休憩時間には、研究総括およびアドバイザーの参加によるアドバイザー会議を開催し、領域運営の方針等について検討を行っている。なお、領域会議ではアドバイザーより各チームに対するコメントを作成頂き、後日、研究代表者へフィードバックしている。

(2) 研究チームのサイトビジット

研究チームに対して、研究進捗状況の確認、および領域会議や評価会等で研究総括・アドバイザーから指摘された事項を再確認する目的で行っている。また、予算配分時（総括裁量等）の判断材料のため、研究推進上の問題等をヒアリングし情報収集することも目的の一つである。サイトビジットには、研究総括、研究課題の専門分野に近い領域アドバイザー1-4名程度、およびJST担当により研究現場を訪問している。なお、サイトビジット後は、必要に応じてアドバイザーより各チームに対するコメントを作成頂き、内容を取捨選択の上、後日、研究代表者へフィードバックしている。2017年1月現在、全チーム、合計25回のサイトビジットを終えている。

(3) 研究課題の中間評価

2017年1月現在、2012年度、および2013年度採択の合計13チームの課題中間評価を行った。中間評価結果については、研究総括・アドバイザーからの公開・非公開コメントにて、研究代表者へフィードバックを行っている。フィードバック内容には、成果展開・チーム体制の見直しや新たな展開に対する今後の指針に対するアドバイスなどが含まれており、評価会から数ヶ月後に行われる領域会議において、どのように反映されたかについて研究代表者より発表頂くと共に、次年度の研究計画書に反映頂く流れとなっている。

(4) 研究成果の公開

研究成果を領域内外の研究者へ公開する目的で、2015年11月5-6日にさきがけ「ライフサイエンスの革新を目指した構造生命科学と先端的基盤技術」（若槻 壮市 研究総括）、CREST「生命動態の理解と制御のための基盤技術の創出」研究領域（山本 雅 研究総括）および、さきがけ「細胞機能の構成的な理解と制御」研究領域（上田 泰己 研究総括）とで、4研究領域合同の国際シンポジウム“Structural Biological Dynamics: From Molecules to Life with 60 trillion Cells”を開催した⁵。海外の著名な研究者6名を招聘し、約300名の参加者に対して、研究領域における世界レベルの成果についてアピールすることが出来た。

更にプレスリリースも12件（およびJSTの共同発表を行わずに研究者の所属機関が主体で行った5件）と積極的に行い、新聞等のメディアに数多く取り上げられた。

⁵ 開催報告の公開ウェブ：<http://www.jst.go.jp/report/2015/151111.html>

(5) 研究費の配分

研究総括裁量経費は、サイトビジットによる実地でのヒアリングや中間評価会や領域会議での発表内容による成果・現状把握や年に数回の増額希望調査に基づいて、必要性や緊急性を研究総括が承認した案件のみ、当該経費の配分を行っている。その際、①CREST の研究において、増額により現状の課題を克服するような案件、②領域内チーム間連携課題に対する案件、③CREST の研究加速のために必要な国際共同研究や国際シンポジウムなど成果の国際的な展開を見据えた案件、④研究加速に早急に必要、ないし成果の社会実装に向けて必要となる案件、⑤公開シンポジウム開催費用等、研究成果の展開支援に関わる案件、⑥その他（移籍による研究室セットアップ経費、グループ追加支援等）の6項目を念頭に支援を行っている。この他、JST 共通の制度である、CREST 研究費で雇用している研究員のライフイベント（出産・育児・介護等）に係る研究費支援を積極的に行っている。

(6) 国際支援

本領域で開発・研究加速が期待される技術の国際的な展開や連携を目的に、シンポジウムやワークショップ開催の支援を領域内に周知している。その結果、研究代表者が主催する2016年10月に高速AFMの国際ワークショップの開催支援を行った。当ワークショップでは、本領域の研究チームだけでなく、さきがけ「構造生命科学」領域の研究者も多く参加し、領域内外の連携にもつながる成果となった。

(7) 領域内ならびに領域間連携

本領域では、「高速AFM」「RNA質量分析」「クライオ電子トモグラフィー」「MDシミュレーション」などの要素技術開発が目覚ましく、開発技術の展開を目的に、領域内での共同研究ならびに、さきがけ「構造生命科学」領域との領域間連携が数多く行われている。

(8) 領域研究分野の紹介

本領域ならびにさきがけ「構造生命科学」領域で行われている、①「構造生物学」と「生命機能解析」の融合と予想される今後の展開、②分野の発展のための共同研究のあり方、③各要素技術の現状と今後なされるべき技術開発を議論し、領域の考えを広く周知するために、2016年12月にさきがけ「構造生命科学」領域との合同会議を行った。約150名の「構造生命科学」研究者がグループディスカッションを行い、分野の現状と今後についてまとめた。この成果は2017年3月号掲載の「実験医学」に掲載予定である。

6. 研究の経過と所見

研究は計画に沿って概ね順調に進められている。論文発表は450報(2017年1月6日現在)であり、学術的に優れた研究成果が得られている。また、科学技術イノベーション創出への貢献という点でも、これまでに6件の国内・国際特許出願がなされている。また、数

名の研究代表者は「文部科学大臣賞」、「文部科学大臣・若手科学者賞」、「井上春成賞」等の著名な賞を受賞しており、その研究業績に対する高い評価を得ている。研究課題の中間評価は、2012 年度、2013 年度に採択した 13 研究課題分が終了しているが、いくつかのチームに対しては、今後重点をおくべき研究課題を指定し、そこに焦点を絞ること、チームの編成を再考することなどの指導・助言を行った。以下、これまでに特に優れた研究成果を挙げた研究課題について、成果の具体的な内容 と今後の見通しを記載する。

(1) 遠藤チーム

目標として掲げたトランスロケータの構造研究と機能解析、脂質輸送因子の探索と構造決定、機能解析などは、当初の予想以上に成果が出ている。もう一つの目標として掲げたトランスロケータの膜貫通複合体に関しては、TOM 複合体について、部位特異的光架橋によるアミノ酸残基レベルの空間分解能でのサブユニット配置、その動的変換などについての情報が得られ、これを基本情報として構造解析を進められる見通しがたった。この間、世界的にはクライオ電子顕微鏡による構造解析が世界的に進み、競争が激化している。建久グループは、TOM 複合体および RNC (リボソーム新生鎖複合体) TOM 複合体を酵母細胞から再現性良く大量調製するプロトコルを確立し、クライオ電子顕微鏡 (阪大蛋白研) での解析を進めている (吉川研との共同研究)。現在 RNC-TOM 複合体について 9.1 Å 分解能で TOM が見えるところまで来ている (報告が出ている ER における RNC-Sec 複合体のクライオ電子顕微鏡像と重ねてみると、TOM の位置が一致している)。今後の課題は RNC-TOM 複合体中については、TOM の占有率をあげることで、TOM 単独複合体については Amphipol を用いた試料調製の条件最適化が重要である。このように重要成果を得るところまでもうひと息というところまで来ている。

(2) 山口チーム

グラム陰性細菌の異物排出トランスポーターは、有効な臨床治療薬の未だ存在しないグラム陰性多剤耐性菌感染症の大きな原因であり、その阻害剤の開発が切実に求められているだけでなく、基礎科学の素材としても、化学構造に共通性の無い多数の異物を認識し排出しつつ、他方で厳密な特異性があるなど、これまでの生化学の常識では理解し難い興味ある研究素材である。建久グループは世界で初めてこのトランスポーターの X 線結晶構造を決定し、多剤認識と異物排出の機構を解明してきた。現在でも、生理的に意味のある新たな基質結合構造を解いた実績のあるほとんど唯一のグループである。本プロジェクトは、①3 者複合体構造の決定と輸送時におけるダイナミズムの解明、②さらに多くの基質・阻害剤結合構造を決定し、多剤認識と特異性の構造的基礎を明らかにする、③構造を元に臨床に使える広域阻害剤を分子標的創薬する、という 3 つの目的を掲げて開始した。初期の段階で、世界で初めて阻害剤結合構造を決定し (Nature 2013)、阻害剤特異性の構造的基礎を解明した。3 者複合体については結晶作成に苦労している間にクライオ電顕による構造決定

が報告され出し抜かれたが、そこで示唆された AcrB-AcrA-1:2 の構造に対し、我々が作成した AcrB-AcrA 1:1 の融合タンパクは Δ acrAB 環境で TolC があれば野生型と同程度の排出輸送活性を示すという驚くべき結果が得られ報告した (J. Bacteriol. 2015)。現在、融合タンパクを用いた 3 者複合体結晶構造決定に取り組んでいる。阻害剤に関しては SBDD により 200 以上の新規化合物を有機合成し、MexB と MexY を共に阻害する広域阻害剤 H-31 を得た。臨床分離緑膿菌株ライブラリに対し、これまでのどの阻害剤よりも抗菌薬の抗菌力回復効果が強いことを確かめ、富山化学との臨床薬開発共同研究を 2016 年に開始したが、動物実験で強い毒性が発見され、H-31 に関しては開発断念せざるを得なかった。富山化学との共同研究は継続し、毒性の無い広域阻害剤の再構築に向かって研究を重ねている。

(3) 礒辺チーム

本研究で開発を進めている RNA の質量分析システムは、ゲノム情報を利用して生体由来の RNA を同定し、その構造と機能の調節に重要な化学修飾の実態と細胞内でのダイナミクスを直接、一塩基解像度で網羅的かつ定量的に解析できる世界で唯一のシステムである。このシステムは、現在世界最高の性能と感度を誇り、細胞のタンパク質合成装置であるリボソームを構成する巨大な RNA の完全な化学修飾地図の作成に成功して生物進化との関連を明らかにするなど、斬新で独創的な成果をあげている。また、RNA の代謝異常に起因するヒトの難治性神経変性疾患である筋萎縮性側索硬化症 (ALS) や脊髄性筋萎縮症 (SMA)、さらには悪性脳腫瘍であるグリオーマ (神経膠腫) など、現在治療法がないヒトの疾病の原因の解明に繋がる多くの成果をあげている。本研究は、最先端の質量分析法を駆使した RNA-タンパク質相互作用の直接解析による生命活動の分子基盤の理解からその異常に起因するヒトの疾病の原因と発症機構の研究、さらには早期診断のためのバイオマーカーの開発から治療を目指す創薬研究のための独創的で強力な基盤技術となりつつある。

(4) 清水チーム

一本鎖核酸を認識する TLR (TLR7/8 : ssRNA, TLR9 : ssDNA) の構造解析によるリガンド認識機構の解明、さらには一本鎖核酸認識 TLR の統合的な理解および利用を目指して研究提案が行われ、本領域にて採択した。

構造解析が順調に進んだ結果、予定していたすべての TLR に関して原子レベルでの基本構造が明らかとなり、詳細なリガンド認識機構の提案が可能となった。加えて、本研究を通じて研究開始当初には予想もできなかった事実が明らかとなっている。一つは、それ自体がリガンドと考えられていた一本鎖核酸がヌクレオシドなどの分解産物となってから TLR7/8 に認識されていたこと、もう一つは各 TLR が複数のリガンド結合サイトを持つことで協調的に結合が増強されていたことである。特に前者は、TLR7/8 が ssRNA と低分子リガンドという物理的にも化学的にも大きく性質の異なる 2 種類のリガンドをどのように認識し得るのかという謎を解明するものであり、本研究の新規性および独創性を如実に表す成

果と言える。

また、構造学的知見を基にした解析の結果、一本鎖核酸の分解に関わる切断酵素 (DNaseII) やヌクレオシドトランスポーター (SLC29A3) が核酸認識 TLR の活性化を制御することも見出している。特に SLC29A3 の変異はヒトの H 症候群の原因であり、SLC29A3 の機能消失に伴う TLR7 の異常活性化が H 症候群の病因であることも判明しつつあり、現在さらに検討を進めているところである。

(5) 永田チーム

ERdj5 も ERdj8 も本研究チームが発見した新規タンパク質であり、その意味では「国内外の類似研究」というものは存在しない。ERdj5 が小胞体関連分解を促進することを発見し、報告してきたが (*Science* 2008)、研究の進展によって、ERdj5 がさらに同じ還元力によって、小胞体におけるカルシウムポンプ SERCA2b を活性化するというまったく新しい概念を構築することができた。これは小胞体におけるタンパク質恒常性、カルシウム恒常性、そしてレドックス恒常性という 3 つの主要な恒常性が互いに密接にクロストークしていることを示しており、きわめて独創性と新規性の高い発見と考える。

さらに小胞体内のカルシウム濃度恒常性維持に関わる SERCA2b カルシウムポンプの結晶構造解析に成功し、構造的視点から SERCA2b の分子機構を解明するための礎を築きつつある。特に SERCA2b に特徴的な C 末端膜貫通ヘリックスと PDI family タンパク質を介した活性制御機構の解明は、カルシウムポンプおよび小胞体品質管理の領域において新しい概念を生みだし得る極めて独創性の高い仕事になるものと期待している。

また、ERdj8 は最近見つかった新規タンパク質であるが、オートファジーを負に調節する因子であることを明らかにしつつあり、そのことによってオートファゴソームのサイズの調節がなされている可能性を明らかにしつつある。これまでオートファゴソームのサイズがどうして 1 μm 程度に規定されているのか、その分子機構はまったく不明であったが、ERdj8 がその規程因子である可能性があり、独創性・新規性の高い仕事になると期待している。

(6) 野田チーム

本研究チームによる Atg 因子群の相互作用解析によって、Atg1 複合体が天然変性蛋白質を介したゆるい相互作用で繋ぎ留められ、ゲルや液晶のようなやわらかい高次会合体を形成すること、その高次会合体がオートファゴソーム形成の場として機能することが明らかとなってきた。すなわち X 線結晶解析や電子顕微鏡を中心とした構造解析手法だけでは限界があり、NMR に加えて高速原子間力顕微鏡など動的構造解析が可能な手法の導入が必須となり研究に取り入れている。また新規 Atg8 結合因子の探索の過程で小胞体や核がオートファジーにより高い選択性を持って分解されていることを世界に先駆けて見出した。これら新規選択的オートファジーにおいては分解されるオルガネラ側が断片化されることが必

須であり、すなわち通常のオートファジーよりもさらに複雑な膜動態が引き起こされることが明らかとなった。そこで選択的オートファジーにおける複雑な膜動態解明についても研究の中心課題の一つとして進めている。全体として国内外を完全にリードして独創性・新規性の高い研究が展開できている。

(7) 安藤チーム

15年の歳月を経て、高速AFM技術は研究代表者のグループにより、2008年に確立された。それ以降の5年の間に、代表者のグループにより、Bacteriorhodopsin や Myosin V など数種類の蛋白質分子の機能動態が高速 AFM によりイメージングされ、高速 AFM の革新性と有効性が実証された。本研究課題はこれらの成果をベースに提案されたものである。すなわち、ATPase/GTPase を中心とする多くの興味ある蛋白質系の機能中の姿を高速 AFM で可視化し、従来手法では得ることのできない動的構造情報から、それら蛋白質の機能発現機序を解明することを目指すものである。また、これらの観察の試行を通して、目的の動的現象の可視化を容易にするアッセイ系を種々検討し、最適化条件を見出していくことも重要な研究要素である。これらの内容は今も変わっていない。

蛋白質分子の機能動態を直接可視化する手法は高速 AFM 以外にはなく、本研究チームの研究の独創性・新規性は明らかである。とは言え、高速 AFM は 2012 年から市販化され、世界に普及しつつあり、海外でも優れた成果が、例えばフランスやオーストリアのグループからも出るようになってきた。高速 AFM を活用したバイオ研究は今後益々世界的に拡大していくことは間違いない。従って、高速 AFM 技術を生んだ我が国が世界を先導し続けるためには、更なる技術開発を推し進める必要がある。研究代表者らが最近開発した、分子を操作しその結果をイメージングできるインターラクティブ高速 AFM はその一例と言えるであろう。提案したイメージング研究に加え、更なる技術開発を今後進めて行くことも極めて重要と考えている。

7. 総合所見

(1) 研究領域のマネジメントと研究領域の成果の見通し

1 期から 3 期までを研究課題選考を行ううえで特に意識し、アドバイザーにも意識していただいたのは、ライフサイエンス研究分野から構造解析が行われることによって、生命機能の理解が飛躍的に進む課題を抽出することである。その結果、ミトコンドリアや小胞体などのオルガネラ、オートファジーなどの細胞内分解機構など分子生物学的課題、多剤耐性細菌感染や自然免疫システム・ピロリ菌感染・発がん機構の感染メカニズム研究課題、バイオ電池開発に向けた課題やクラミドモナスなどの微生物、そして植物の光環境応答や重力屈性など、多様な分野・生物を対象とした課題を採択することができた。いずれの課題も、国際的競争が激しい分野であるが、多くのチームが創意工夫を行い、想像以上のス

ピードで研究成果をあげている。また、領域内の共同研究を活発にするために解析に用いる技術についても、X線結晶構造解析をはじめとして、NMR、計算科学から電子顕微鏡までバラエティに富んだ技術課題を選んだ。特に高速 AFM、RNA 質量分析技術や in cell NMR は本領域独自の技術とあってよく、領域会議等で技術が周知され、選考時の予測を超える、数多くの共同研究がなされている。一方で、いずれの研究課題も、それぞれの分野の最前線で研究を行っているため、競合相手との一進一退の争いを行わざるを得ないチームもある。そういったチームには、サイトビジットによって詳細なヒアリングを行い、具体的なアドバイスをを行っている。本領域には様々な構造解析技術・専門分野のアドバイザーがいることから、各チームの研究状況によって、適切な分野の先生に同行いただいております、この領域のアドバイザー・ボードの層の厚さを実感している。ポスドクなどの実験などを担う若手研究者にとって、学外研究者から詳細な実験内容や研究計画のアドバイスをもらう機会はなかなか与えられないことから、このサイトビジットは非常に有益な取り組みだと考えている。

(2) 本領域を設定したことの意義と今後の期待・展望

本領域の最大目標である「構造生物学とライフサイエンス研究の融合」を基に、選考方針に沿って 18 研究チームの課題を採択した。本領域発足以前から、機能解析にて顕著な成果をあげてきた複数の研究グループが、構造解析のグループとチーム研究を行うことで分子構造から知見を得てさらなる分子機能についての研究に取り組むなど、本研究領域にて数多くの融合による効果が得られている。また反対に、多くの構造生物学研究者が生命現象の機能に着目し、機能解明を念頭に技術革新や解析を行うなど、本領域で掲げた「構造生命科学」分野の確立がなされたといっている。また、タンパク質の発現・精製からそれぞれの構造解析技術の開発や技術革新が行われたことも大きい。日本の構造解析技術の強みと言われてきた X 線結晶構造解析や NMR などは勿論、世界的にブレイクスルーとなったクライオ電子顕微鏡を用いた解析や分子動力学計算、また、本領域にて大きな飛躍を遂げた高速 AFM 技術、世界発の技術開発となったリボ核酸の質量分析技術など、新たな技術開発や技術の高度化が行われたことは、分野の大きな発展に寄与していることは自明である。

本領域で行われているライフサイエンス研究の分野は、医学・薬学・分子細胞生物学・植物学・微生物学等と多岐にわたる。生命機能に関わる分子は勿論、まだまだ解明されていないものが多いのは明らかである。本 18 研究チームの研究課題は領域が存続するあと 1～3 年行われるが、この領域が創り出した「構造生命科学」分野にて、未解明の生命現象を、構造と機能の両観点からアプローチし、より多くの解明が行われていくことが本研究領域を設定したことの最終目標である。

以上